



Efecto del momento de ocurrencia del déficit hídrico sobre el crecimiento de plantines de *Pinus taeda* L.

Bulfe, Nardia^{1,3} & Maria Elena Fernandez²

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA Montecarlo), Av. El Libertador 2472, 3384 Montecarlo, Misiones, Argentina; ² CONICET (INTA EEA Balcarce-Oficina Tandil), General Rodríguez 370, 7000, Tandil, Buenos Aires, Argentina; ³ Bulfe.nardia@inta.gob.ar

Bulfe, Nardia & Maria Elena Fernandez (2014) Efecto del momento de ocurrencia del déficit hídrico sobre el crecimiento de plantines de *Pinus taeda* L. Rev. Fac. Agron. Vol 113 (1): 81-93.

Pinus taeda L. es una especie de importancia comercial a nivel mundial y en Argentina en particular, donde ocupa el primer lugar en superficie implantada. En el marco del cambio climático se predice una mayor frecuencia de eventos de sequía en su región de cultivo, lo que se superpone a la expansión de la misma a suelos con menor capacidad de retención hídrica. Existen antecedentes acerca de su respuesta al estrés hídrico, aunque se desconoce el efecto del momento de ocurrencia del mismo, aspecto que fue evaluado en el presente estudio. Además de la situación control, se impuso estrés hídrico a plantines por restricción del riego al inicio y al final de la primavera, y en verano. Se midió periódicamente el crecimiento en altura y diámetro basal del tallo, y al final del ensayo se analizó la producción y partición de biomasa aérea, y la anatomía de las hojas. Durante la primavera se determinaron el potencial hídrico foliar, la conductancia estomática (g_s), la capacidad fotosintética, la conductividad hidráulica específica de ramas (k_s) y la capacidad de ajuste osmótico. El déficit de agua en el suelo durante la primavera afectó negativamente el crecimiento en altura y diámetro, con distinta capacidad de recuperación en función del momento de ocurrencia del estrés. El estrés en verano no afectó el crecimiento. La disminución del crecimiento en primavera se vio acompañada por cambios a nivel foliar (A_{max} , g_s , tamaño y densidad de estomas), pero sin cambios en la partición de biomasa entre estructuras aéreas, potencial osmótico y en la k_s , que impliquen cambios en la arquitectura hidráulica de las plantas.

Palabras claves: resistencia a sequía, pino taeda, crecimiento, plasticidad morfológica foliar, respuesta estomática.

Bulfe, Nardia & Maria Elena Fernandez (2014) Effects of the time of drought occurrence on growth of *Pinus taeda* L seedlings. Rev. Fac. Agron. Vol 113 (1): 81-93.

Pinus taeda L. is a commercially important species globally and in Argentina in particular, which ranks first in planted area. In the context of climate change a higher frequency of drought events is predicted in its cultivation region, which is superimposed to its expansion to areas with soils with lower water retention capacity. There is knowledge about the species' response to water stress, although it is unknown the effect of the time of occurrence of drought within the growing season, which is the topic evaluated in this study. In addition to control plants, water stress was imposed to other seedlings by restricting watering at the beginning and end of the spring and in summer. Height and stem basal diameter growth was measured periodically. At the end of the experiment, production and biomass partitioning and leaf anatomy were analyzed. During spring, physiological variables such as water potential, stomatal conductance (g_s), photosynthesis, branch specific hydraulic conductivity (k_s) and osmotic adjustment were determined. The soil water deficit during spring had a marked negative effect on growth with differential resilience depending on the time of stress occurrence. Summer stress did not affect growth. The growth decrease in spring was accompanied by stomatal changes (g_s , stomatal size and density). However, no changes were observed in the partitioning of biomass between aerial structures, osmotic potential and k_s , suggesting that spring drought did not result in significant changes in the plant hydraulic architecture.

Keywords: drought stress, loblolly pine, growth, leaf morphological plasticity, stomatal responses

Recibido: 29/10/2013

Aceptado: 06/06/2014

Disponible on line: 01/07/2014

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCION

La distribución natural de *Pinus taeda* L. abarca un amplio rango de condiciones de humedad (desde Carolina del Norte hasta Texas, en los Estados Unidos de Norteamérica), donde el déficit hídrico aumenta hacia el interior del continente. Debido a su uso extendido en plantaciones tanto en EEUU como en otros países, ha sido objeto de numerosos estudios sobre su ecología, silvicultura y ecofisiología. En este sentido, se cuenta con amplia información sobre la respuesta de esta especie al déficit hídrico (e.g. Bongarten & Teskey, 1986; Teskey et al., 1987; Wakamiya-Noborio et al., 1999; Hacke et al., 2000; Aspinwall et al., 2011). Se ha descripto que la funcionalidad del sistema de conducción de agua está relacionada con la conductancia estomática (g_s), y en particular con la sensibilidad estomática diferencial al déficit de presión de vapor de la atmósfera (DPV) de distintos genotipos (Aspinwall et al., 2011). Asimismo, el sistema de conducción de agua está sujeto a modificaciones en función de la plasticidad fenotípica de la planta, que le permite una mayor capacidad de exploración del suelo modificando la asignación de biomasa a las raíces cuando los recursos hídricos son escasos (Barnes, 2002), y también responde a la fertilización con N y P, generando un gradiente de respuestas entre genotipos (Faustino et al., 2013). De acuerdo a los antecedentes, *P. taeda* es una especie capaz de tolerar estrés hídrico moderado, con una importante variabilidad genotípica en las respuestas. Sin embargo, todos los estudios de comportamiento frente al estrés hídrico se han realizado en períodos acotados de tiempo durante la estación de crecimiento, sin analizar la influencia del momento de ocurrencia del estrés sobre la capacidad de respuesta de la planta, principalmente si se considera el estadio de plantín. Este tipo de información no sólo es escasa para *P. taeda*, sino para los estadios juveniles de otras especies arbóreas en general (Fernández et al., 2014). En contraste, numerosos son los estudios en árboles adultos que abordan esta temática (e.g. Schweingruber, 1996; Suárez et al., 2004; Mundo et al., 2010), en muchos casos facilitado por las técnicas de la dendrocronología. Este conocimiento es importante para predecir las posibles respuestas de las especies leñosas en sus primeros años de vida ante la variabilidad predicha en el marco del cambio climático. En la región del Noreste de Argentina donde se cultiva *P. taeda*, los pronósticos indican que en líneas generales la precipitación anual se incrementará, pero tornándose más variable, provocando estaciones secas más frecuentes (Hulme & Sheard, 1999). Si bien es difícil conocer cuándo y cómo ocurrirán estos eventos, el predecir la potencial respuesta de las distintas especies vegetales a los mismos, resulta más abordable a partir de ensayos controlados que modifican el momento de ocurrencia y/o la intensidad del evento de estrés. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del momento de ocurrencia del déficit hídrico sobre el crecimiento de plantines de *Pinus taeda* L. Al momento de llevar a cabo este trabajo, no existían antecedentes publicados sobre este tópico en estadios tempranos de especies coníferas, mientras

que antecedentes en individuos adultos indicaban que un evento de sequía severa en primavera tiene mayor impacto sobre el intercambio gaseoso y/o el crecimiento anual de la planta, que si ocurre en otros momentos de la estación de crecimiento (Goldstein et al., 2000; Zhou et al., 2013). Un estudio realizado en paralelo al presente, pero en plantines de *Pinus ponderosa* en el N.O. de la Patagonia, también demostró que un evento de sequía en primavera provoca una disminución en el crecimiento que no se recupera aún cuando la planta recupera su estado hídrico y su capacidad de intercambio gaseoso durante la misma estación de crecimiento (Fernández et al., 2014). La hipótesis de trabajo planteada fue que la disminución del crecimiento acumulado al final de la estación de crecimiento es mayor cuando el déficit hídrico ocurre al inicio de la primavera en plantines de *P. taeda*, debido a que en este período se observan las tasas de crecimiento mayores. La tasa de crecimiento posterior, aún cuando las condiciones sean favorables para el crecimiento de la planta, no alcanzarían a compensar la disminución durante la etapa inicial.

METODOLOGIA

Área de estudio y diseño del ensayo

Se instaló un ensayo con plantines de *Pinus taeda* en invernáculo durante la estación de crecimiento 2010-2011 en el Campo Anexo Laharrague del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA EEA Montecarlo, Provincia de Misiones, 26° 32' 7" S; 54° 38' 59" O; 200 m.s.n.m.). Las semillas para la producción de los plantines fueron provistas por el programa de mejoramiento genético del INTA, cuyos huertos semilleros están establecidos en el Campo Anexo Manuel Belgrano (CAMB; San Antonio, Provincia de Misiones, 26° 02' 55" S; 53° 46' 10" O; 550 m.s.n.m.). Se trabajó con un *pool* de plantas de las familias I35, M11, T17 y T10, que posteriormente fueron estudiadas en otros ensayos donde se consideró la familia como factor (Bulfe & Fernández, en revisión). De esta manera, en este primer ensayo se analizó la respuesta promedio de 4 familias selectas del programa de Mejoramiento Genético de esta especie en Argentina. Cuarenta y ocho plantines de dos años de edad, en macetas de 20 litros fueron evaluados durante todo el período de estudio comprendido entre los meses agosto de 2010 y febrero de 2011. Las macetas contenían como sustrato 1/3 de suelo rojo (suelo donde se cultiva normalmente la especie en Misiones), 1/3 de corteza de pino y 1/3 de arena. Este sustrato resulta adecuado para el desarrollo de las plantas por su buen drenaje y fertilidad, facilitando además, por su textura, la recuperación de raíces. Si bien no fue un objetivo de este estudio analizar este componente de la planta, se homogenizó el sustrato con el utilizado en un estudio paralelo que sí consideraba este órgano. Se distribuyeron doce plantines en cada uno de cuatro bloques en el invernáculo, en los cuales se aplicaron cuatro tratamientos: I) Control (C), plantines bajo condiciones hídricas óptimas en el suelo en toda la estación de crecimiento; II) Déficit al inicio de la primavera (EIP), con restricción hídrica en el riego entre el 15 de agosto

y el 15 de octubre de 2010; III) Déficit al final de primavera (EFP), con restricción hídrica en el riego entre el 15 de octubre y el 15 de diciembre de 2010 y IV) Déficit en verano (EV), con restricción hídrica en el riego entre el 15 de diciembre de 2010 y el 2 de febrero de 2011. El riego se realizó dos veces por semana aplicando agua hasta saturación (aprox. 2,5 litros por riego) en las macetas del control y 1 litro en cada maceta del grupo de plantas estresadas durante el período antes mencionado en cada tratamiento de déficit hídrico. La cantidad de agua aplicada en el tratamiento de déficit se estimó en base a la determinación previa del consumo de agua promedio diario de plantines de *P. taeda* del tamaño de los estudiados y en las condiciones de invernáculo (Faustino, L.; CONICET – UNLP - INTA EEA Delta, datos no publicados). El agua provista se encontraba por debajo del consumo potencial de agua de la especie, pero en niveles moderados (se estimó un consumo promedio de 3 litros por semana por planta, y se regó con 2 litros por semana, divididos en dos días de riego). El agua provista en la condición control excedía los requerimientos promedios de la planta de manera de que no hubiera limitantes hídricas a nivel del suelo. Se registraron las variables temperatura del aire (T, °C) y humedad relativa (HR, %) en forma automática con un termohigrómetro Hobo (Pro v2 Onset) dentro del invernáculo. A partir de estas variables se estimó el déficit de presión de vapor de la atmósfera (DPV, kPa).

Crecimiento y biomasa aérea

Durante toda la estación de crecimiento se realizaron mediciones de altura total con una cinta métrica (ht, cm) y del diámetro a la altura del cuello de la raíz (base del tallo) con un calibre digital (dac, mm) cada 30 días aproximadamente, en todos los plantines de cada tratamiento. Con estas variables se estimó el crecimiento de las plantas a partir del incremento acumulado (absoluto y relativo) y la tasa de este proceso en los distintos períodos, en términos absolutos (IA) y relativos (IR), según las siguientes ecuaciones (Hunt, 2003):

$$IA(cm/mm) = y_2 - y_1$$

$$IR(cm/mm \cdot día^{-1}) = \frac{(y_2 - y_1)}{y_1}$$

Donde:

y_1 = variable de tamaño (Altura/dac) en t_1

y_2 = variable de tamaño (Altura/dac) en t_2

La asignación de plantas a cada tratamiento fue un proceso totalmente aleatorio, sin embargo, la altura total promedio en las plantas control fue significativamente menor en comparación a la altura promedio de los grupos de plantas dentro de los tratamientos EIP y EFP al inicio del ensayo (previo a la aplicación de los tratamientos). Estas diferencias en tamaño inicial de los grupos de plantas reforzaron la necesidad de evaluar tanto el crecimiento absoluto como el relativo (al tamaño inicial de cada planta) de manera de interpretar correctamente los patrones encontrados.

Al final de la estación de crecimiento se determinó la biomasa aérea y su distribución en los distintos compartimentos en 12 plantines del C y en 8 de cada uno de los tratamientos con restricción hídrica (EIP, EFP y EV). Se calculó una aproximación a la relación de Huber, como el cociente entre el área de xilema activo (cm^2) y la biomasa de hojas (g).

La sobrevivencia de las plantas fue del 100% durante el período de estudio considerado en el presente trabajo.

Mediciones anatómicas en hojas

Se estudió la anatomía foliar de un fascículo (tres acículas) de cuatro plantas de cada tratamiento. Se realizaron cortes transversales con un micrótopo manual con un espesor de corte de 25 μm . Los cortes fueron deshidratados con distintas graduaciones alcohólicas para su posterior tinción con safranina al 1%, y se montaron en Entellan® para la observación en microscopio óptico (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Se tomaron improntas sobre las acículas, para la caracterización estomática, mediante la aplicación de laca transparente la cual fue retirada a través de una cinta adhesiva, siendo luego adherida sobre un portaobjeto para la observación en microscopio. Los preparados (Figura 1) fueron fotografiados con una cámara digital Moticam 2000, montada sobre un microscopio trinocular Carl Zeiss (Axiolab, Alemania). Sobre las improntas de las hojas se midieron las variables densidad y tamaño de estomas, y sobre los cortes, el espesor de la epidermis y el área del mesófilo. Se determinó el índice de poro estomático (IPE, índice adimensional teórico de la máxima conductividad estomática; Sack et al., 2003) en los distintos tratamientos según la siguiente ecuación:

$$IPE = DensidadEstomática \times LongitudEstoma^2$$

Las mediciones microscópicas fueron realizadas mediante el software Motic Images Plus 2.0 complementario a la cámara MOTICAM 2000.

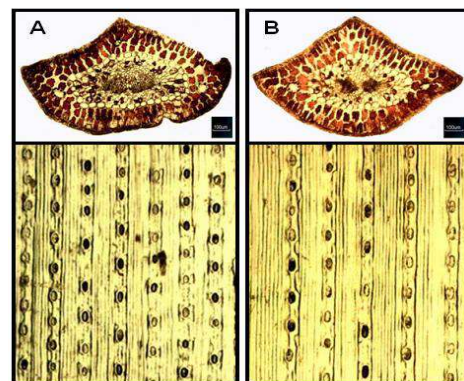


Figura 1: Cortes histológicos en acículas de *P. taeda*. A) Corte histológico de acícula de una planta control, B) corte histológico de una acícula de una planta sometida a déficit hídrico al final de la primavera (EFP). En los paneles superiores se muestran ejemplos de cortes transversales de las acículas, y en los inferiores, las improntas donde se midió tamaño y densidad de estomas.

Variables fisiológicas

Durante los primeros meses del experimento, se llevaron a cabo distintas determinaciones ecofisiológicas, de manera de explicar los patrones observados en crecimiento y producción de biomasa. Lamentablemente, estas mediciones no pudieron llevarse a cabo en el último período de ensayo (verano) por problemas técnicos, por lo que su utilidad se restringe a contribuir a explicar los efectos del déficit impuesto en primavera, período de crecimiento más activo.

Periódicamente (cada 20 a 50 días) fue medido el potencial hídrico foliar (Ψ_f , MPa) en tres plantas por tratamiento (un fascículo por planta) en pre-alba y al inicio de la tarde (14 horas, momento de máxima radiación y temperatura ambiente) con una cámara de presión (Bio-control, Modelo 0-6 MPa, Argentina).

La conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue medida entre agosto y diciembre de 2010 en 12 plantas del control y de los tratamientos de estrés correspondientes en cada período de estudio (EIP o EFP). Estas determinaciones fueron realizadas en dos momentos del día, a media mañana (aproximadamente a las 9 horas), y al inicio de la tarde (aproximadamente a las 14 horas) utilizando un porómetro Decagon Devices, modelo SC-1. En todos los casos las mediciones fueron realizadas en un fascículo por planta completamente expandido de la parte media de la copa.

Se midió la tasa de fotosíntesis neta a saturación de luz (A_{max}) a inicios de primavera (entre agosto y setiembre) en tres fascículos por planta en 12 plantas de cada tratamiento con un analizador de gases infrarrojo PP Systems – modelo TPS-2. El nivel de radiación utilizado fue de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Se estimó la conductividad hidráulica específica *in situ* (k_s , $\text{Kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) en una rama por planta, de aproximadamente 10 cm de longitud cortada al mediodía, en cuatro plantas en el control y cuatro en el tratamiento EIP. Para ello, se utilizó un conductímetro multicanal construido en PVC, con ocho canales (e.g. Fernández et al., 2010). El agua que perfundió en cada rama fue colectada en un recipiente que fue pesado en una balanza digital con una precisión de 0,001 g. Se consideró a toda el área transversal de xilema como área efectiva de conducción, sin descontar el porcentaje de médula. Si bien esto puede subestimar levemente el valor de k_s , consideremos que, debido a que la porción de médula es muy poco significativa, el error sería bajo y similar para ambos tratamientos.

A los efectos de determinar la existencia de procesos de ajuste osmótico y/o elástico de los tejidos foliares en respuesta al estrés hídrico, se determinaron los parámetros hídricos a través de las relaciones de presión-volumen (P-V) en plantas del control y del tratamiento EIP ($n=12$). Se extrajo un fascículo por planta, y se lo hidrató durante 24 horas en oscuridad hasta su saturación. Las curvas fueron creadas a partir

del método de “transpiración libre” según Corcuera (2003). A partir de las curvas P-V se estimaron el potencial osmótico a saturación (Ψ_{IIsat} , MPa), el potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (Ψ_{TLP} , MPa), el contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia (CRA_{ppt} , %) y el contenido relativo de agua apoplástica (CRA_{apo} , %). El cálculo de los ajustes se realizó de forma manual debido a que las curvas no ajustaron con el programa Pressure-Volume Curve Analysis Program (P-V Program).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando análisis de varianza (ANOVA, $p < 0,05$) para las variables crecimiento periódico y acumulado (dentro de cada fecha), biomasa total y en sus diferentes compartimentos, k_s , potencial hídrico, g_s y las variables anatómicas de hojas. Para la comparación de medias entre cada par de tratamientos, cuando el ANOVA indicó diferencias significativas, se utilizó el test de Tukey ($p < 0,05$). Asimismo, se estimó el coeficiente de correlación de las variables potencial hídrico y g_s con el DPV. En todos los casos se utilizó un nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS

Crecimiento en altura y diámetro basal

El incremento absoluto en altura y dac para todo el período de estudio (agosto de 2010-febrero de 2011) no presentó diferencias estadísticas entre los distintos tratamientos. Sin embargo, al tomar en cuenta el tamaño inicial de las plantas (incremento relativo en altura y dac) se observaron diferencias estadísticamente significativas entre algunos tratamientos para ambas variables. En altura se diferenciaron las plantas del EIP por su menor crecimiento con respecto a las de los tratamientos C y EV, así como las de la situación EFP por su menor crecimiento que las de C (Figura 2 A y B), mientras que en dac se diferenciaron solamente las plantas del EIP, por su menor crecimiento respecto a las plantas control, EFP y EV (Figura 2 C y D).

La tasa absoluta de incremento en altura ($\pm \text{DE}$) para todo el período fue de $0,32 \pm 0,09$; $0,25 \pm 0,10$; $0,27 \pm 0,08$ y $0,32 \pm 0,08 \text{ cm día}^{-1}$ para el control y los tratamientos de déficit EIP, EFP y EV, respectivamente, no habiendo diferencias estadísticas entre tratamientos. Sin embargo, en valores relativos las plantas del EIP presentaron incrementos promedios inferiores estadísticamente a los demás tratamientos.

Tanto el incremento diario en altura absoluto como el relativo tuvieron un patrón estacional, resultando muy variable durante el período de estudio, con dos picos, uno máximo en octubre y otro de menor magnitud en diciembre (Figura 3 A y B).

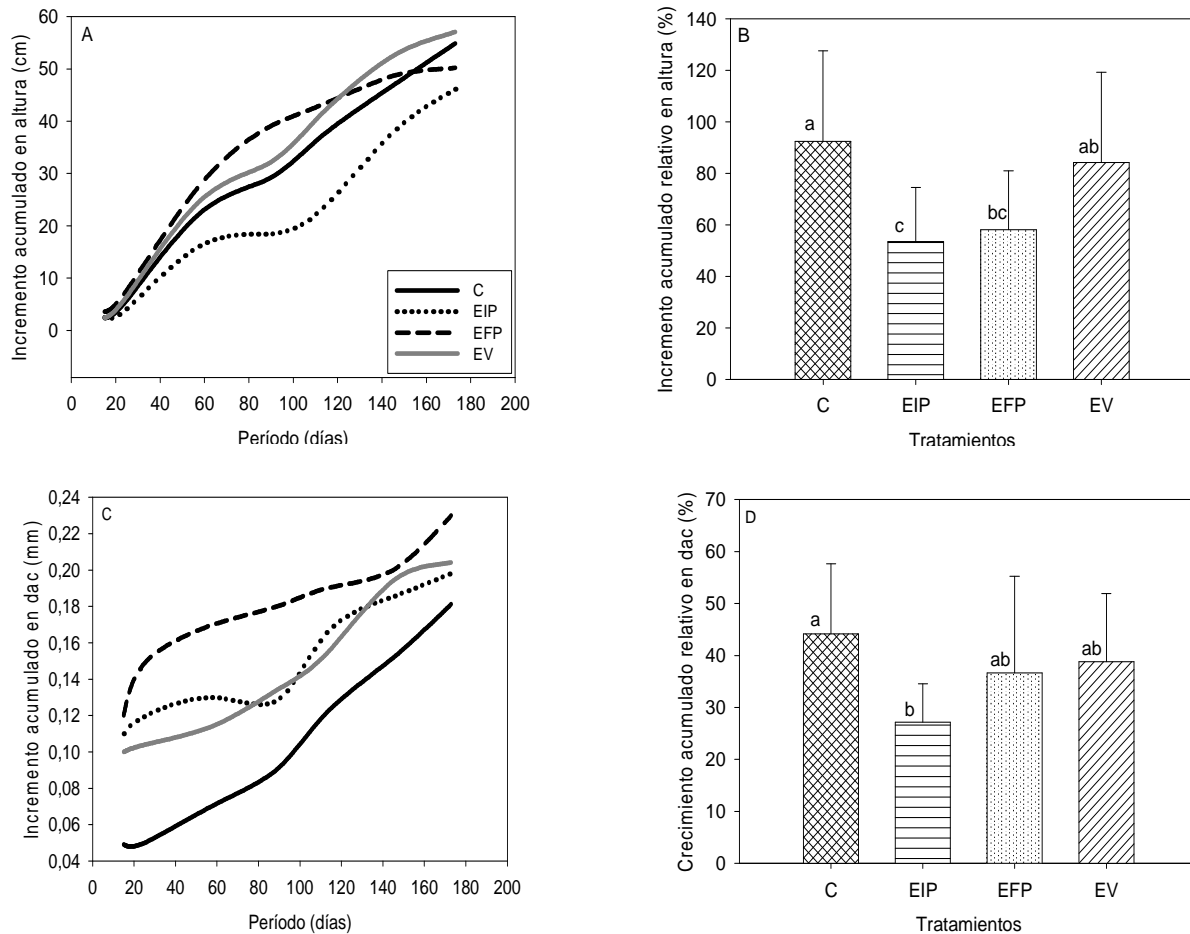


Figura 2: Incremento promedio en altura y dac para cada tratamiento en respuesta al estrés hídrico. A) Incremento absoluto en altura (cm) acumulado a lo largo del período de ensayo (180 días); B) incremento acumulado en altura relativo (%) con respecto al inicial al final del período de estudio. C) Incremento absoluto en dac (mm) a lo largo del período de ensayo (180 días); D) incremento acumulado en dac relativo (%) con respecto al inicial al final del período de estudio. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, $p < 0,05$.

La tasa de incremento en altura estimada en los diferentes períodos dentro de la estación de crecimiento, estuvo afectada por el déficit hídrico cuando éste se produjo en primavera (tratamientos EIP y EFP), no así cuando ocurrió en verano (Figura 3 A y B). El estrés impuesto al inicio de la temporada de crecimiento (EIP) comenzó a tener un efecto significativo sobre el crecimiento diario, tanto absoluto como relativo, luego de 15 días de estar las plantas expuestas al estrés (segunda fecha de medición) en comparación con el crecimiento diario del control. Estas diferencias significativas de crecimiento con respecto al control ($p < 0,05$) se mantuvieron posteriormente al cese del estrés en el EIP, notándose una recuperación en la tasa de crecimiento diario recién aproximadamente 60 días posteriores al cese del estrés (a los 120 días en el eje x de la figura 3A; $p > 0,05$ al comparar el crecimiento entre C y EIP). Por otro lado, cuando el estrés fue aplicado al final de la primavera (EFP), se observó un efecto del tratamiento sobre el crecimiento diario recién a los 50 días posteriores al inicio del estrés en

comparación al control ($p < 0,05$). En este punto (110 días en el eje x de la Fig. 3A) los tratamientos EIP y EFP presentaron crecimientos diarios similares entre sí y menores al control, tanto en valor absoluto como relativo. Para el tratamiento EFP no se llegó a detectar una recuperación en su tasa de crecimiento incluso 50 días posteriores al cese del estrés hídrico (final del experimento) en este tratamiento. Para el tratamiento EV, no se observaron diferencias estadísticas en las tasas de crecimiento diario en comparación con el control ($p > 0,05$ en todas las fechas de comparación), tanto en valores absolutos como relativos.

La tasa absoluta de incremento en dac (\pm DE) para todo el período fue de $0,028 \pm 0,01$; $0,020 \pm 0,003$; $0,027 \pm 0,01$ y $0,026 \pm 0,01$ mm día⁻¹ para el control y los tratamientos EIP, EFP y EV respectivamente, sin diferencias estadísticas entre tratamientos (Figura 3 C). Sin embargo, en valores relativos los tratamientos EIP y EFP presentaron incrementos inferiores estadísticamente respecto al control y al EV (Figura 3 D).

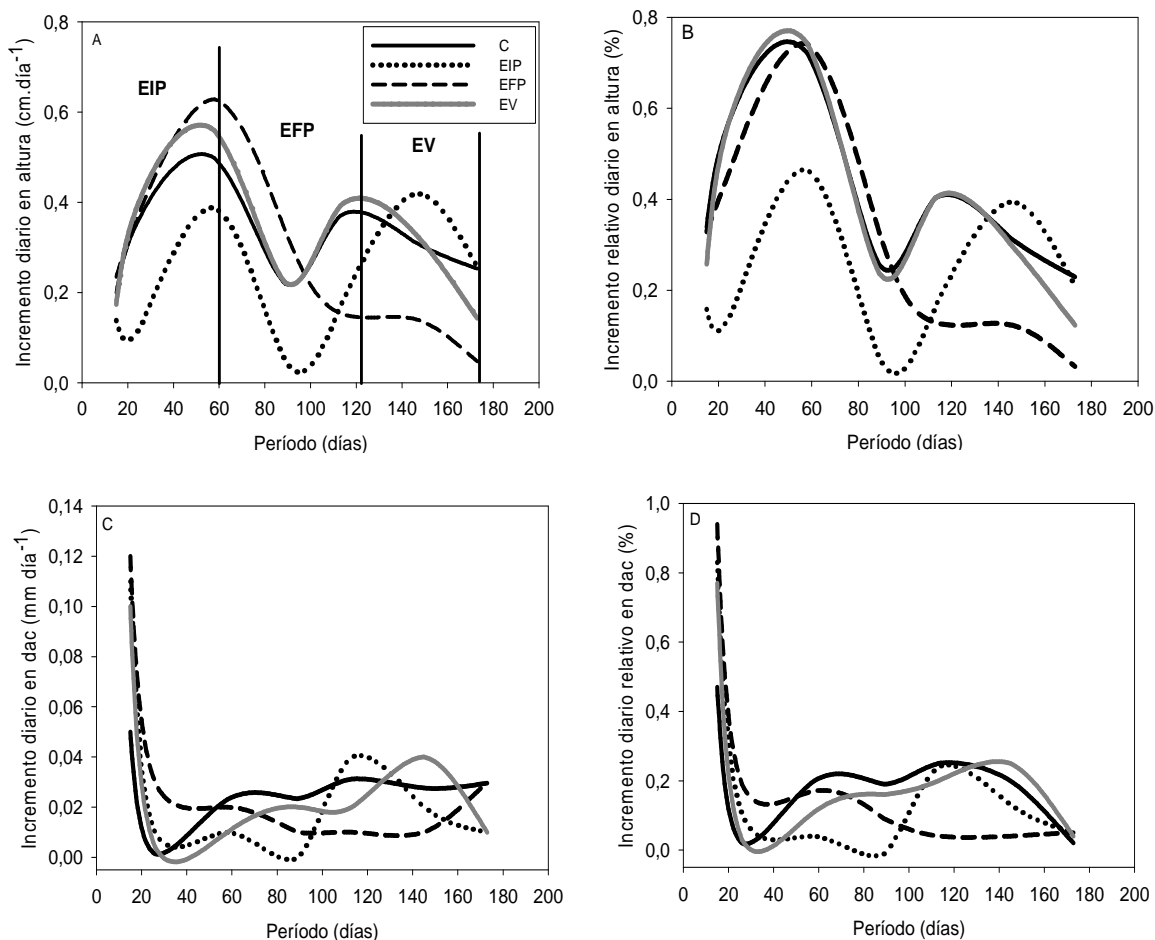


Figura 3: Tasa de incremento diario promedio en altura y dac para cada tratamiento en los diferentes momentos del período de crecimiento. A) Incremento absoluto en altura (cm día⁻¹); B) incremento relativo en altura (% del valor inicial día⁻¹); C) incremento absoluto en dac (mm día⁻¹); D) incremento relativo en dac (% del valor inicial día⁻¹). C= control (sin restricciones de agua en el suelo), EIP= estrés hídrico (restricción de riego) al inicio de la primavera (hasta la primera línea vertical en el gráfico 2A); EFP= estrés hídrico al final de la primavera (período comprendido entre las dos primeras líneas verticales en 2A); EV= estrés hídrico en verano (período comprendido entre las dos últimas líneas verticales del gráfico 2A). En el texto se indican las fechas en las que hubo diferencias significativas entre tratamientos.

El incremento absoluto en dac en los diferentes períodos presentó un patrón similar al descrito para la variable altura, destacándose las diferencias al inicio del ensayo en el incremento entre el control y los demás tratamientos (C y EV fueron estadísticamente diferentes de EIP y EFP). Estas diferencias al inicio imponen un retraso en la diferenciación estadística de los tratamientos respecto al control.

Asignación de biomasa aérea

Todas las plantas tuvieron la misma biomasa aérea total al final del ensayo, sin diferencias estadísticas en su asignación a los distintos compartimentos que conforman la porción aérea de la planta ($p > 0.05$). En todos los tratamientos se observó una mayor asignación relativa al tallo, seguida por las hojas y por último, las ramas (Tabla 1).

La relación entre el área de xilema conductivo del tallo y la biomasa foliar de cada planta (aproximación a la

relación de Huber) tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, con un valor promedio general de $9,5 (\pm 2,7) \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$.

Anatomía foliar

Las plantas expuestas a estrés hídrico manifestaron algunas modificaciones en la anatomía foliar, especialmente a nivel estomático. El diámetro de los estomas aumentó, mientras que la densidad estomática disminuyó en los tratamientos con déficit hídrico (Tabla 2). Sin embargo, la magnitud de los cambios dependió del momento de ocurrencia del estrés (Tabla 2).

Por otro lado, la epidermis mostró una tendencia a un aumento en el espesor en plantas expuestas a estrés hídrico respecto al control, sin diferencias significativas entre tratamientos. El área del mesófilo, el área de estomas y el índice de poro estomático no fueron afectados por los tratamientos (Tabla 2).

Tabla 1: Distribución de la biomasa aérea en los distintos compartimentos al final del ensayo. Biomasa aérea total (g) y su distribución en los distintos componentes aéreos (Tallo, ramas y hojas) (%). Promedios por tratamientos y general para todos los tratamientos. C: Control; EIP: Estrés al inicio de la primavera; EFP: Estrés al final de la primavera y EV: Estrés en verano. En ninguna variable hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Tratamientos	Aérea (g)	Tallo (%)	Ramas (%)	Hojas (%)
C	72,3±25,5	47,9±4,7	20,8±5,5	31,3±7,4
EIP	91,1±25,6	50±5,7	21,8±4,6	28,2±3,1
EFP	98,1±19,4	51,4±3,3	22,7±2,6	25,8±3,4
EV	104,1±44,3	51,3±3,7	22,4±4,4	26,3±5,5
General	88,6±30,3	49,5±4,7	21,6±4,7	28,9±6,3

Tabla 2: Características morfológicas de las acículas de *P. taeda* en los distintos tratamientos. C= control (sin restricciones de agua en el suelo), EIP= estrés hídrico (restricción de riego) al inicio de la primavera; EFP= estrés hídrico al final de la primavera; EV= estrés hídrico en verano; IPE= índice de poro estomático. Letras distintas indican diferencias estadísticas $p < 0,05$.

Trat.	Diámetro de estomas (μm)	Densidad estomática (estomas/ mm^2)	Espesor de epidermis (μm)	Área del mesófilo (mm^2)	Área de estomas (mm^2/mm^2)	IPE
Control	14,6±2,5 b	119,2±23,6 a	3,9±1,2 a	0,9±0,5 a	0,019±0,003 a	0,025±0,004 a
EIP	19,4±2,1 ab	76,8±29,6 ab	5,1±0,7 a	0,8±0,4 a	0,022±0,006 a	0,027±0,008 a
EFP	20,8±3,3 a	55,6±12,9 b	5,8±0,6 a	1,0±0,3 a	0,020±0,009 a	0,025±0,011 a
EV	20,7±2,5 a	67,7±21,9 b	5,3±0,5 a	1,3±0,3 a	0,023±0,009 a	0,029±0,010 a

Efectos del déficit hídrico impuesto en primavera sobre las relaciones hídricas e intercambio gaseoso.

El potencial hídrico, tanto en pre-alba como al mediodía, presentó valores menores (más negativos) en las plantas con restricción hídrica respecto a las plantas control en cada período de estrés (Fig. 4), siendo las diferencias estadísticamente significativas solamente durante la primavera tardía (mediciones en octubre y diciembre).

El máximo gradiente de potencial hídrico diario desarrollado en cada grupo de plantas (diferencia entre el potencial hídrico máximo (pre-alba) y mínimo (14 horas aproximadamente) en cada día fue similar entre tratamientos. Por otro lado, se observó que el potencial hídrico foliar estuvo inversamente relacionado con el DPV (Fig. 5), descendiendo linealmente a medida que aumentó el DPV. Los coeficientes de correlación entre estas variables fueron de -0,92 ($p=0,001$) en el control y -0,78 ($p=0,02$) para las plantas estresadas bajo los tratamientos EIP y EFP. La comparación de las rectas de regresión ajustadas a estas variables mostró diferencias en las pendientes, no así en la ordenada al origen, entre las plantas control y las expuestas a déficit hídrico (Fig. 5). Los parámetros de las rectas de regresión fueron los siguientes:

Control: Potencial hídrico foliar (MPa) = -0,6632 DPV (kPa) - 0,6214 ($p=0,001$; $F=34,594$; $R^2=0,85$)

Plantas con déficit hídrico en suelo: Potencial hídrico foliar (MPa) = -0,5647 DPV (kPa) - 1,1327 ($p=0,023$; $F=9,231$; $R^2=0,6168$)

Se observó una disminución de la g_s en los plantines bajo estrés hídrico (EIP y EFP) con respecto a la situación control, tanto a las 9 de la mañana (momento de máxima g_s esperada) como al momento de mínima g_s esperada (14 horas aproximadamente) a partir del mes de septiembre ($p < 0,05$) (Fig. 6). Sin embargo, la conductancia estomática no presentó un patrón definido con respecto al DPV tanto en condiciones óptimas de agua en el suelo como de deficiencia hídrica (coeficientes de correlación no significativos, $p > 0,05$) (Fig. 7).

La A_{max} promedio fue de $8,1 \pm 2,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las plantas control y de $4,0 \pm 2,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las plantas del tratamiento EIP ($p < 0,01$).

Las curvas presión-volumen ajustadas al tejido foliar de plantas control y del tratamiento EIP indicaron que no hubo ajuste osmótico o elástico significativos en situaciones de déficit hídrico. Todos los parámetros analizados fueron similares en C y EIP. El Ψ_{Jsat} promedio (DE) de ambos tratamientos fue de -1,9 (0,5) MPa; el Ψ_{TLP} fue -2,5 (0,9) MPa, y la fracción apoplástica fue 0,65 (0,09) %. El módulo de elasticidad presentó gran variabilidad entre individuos de un mismo tratamiento, con un valor medio (DE) de 20 (21,6) MPa. La conductividad hidráulica específica (k_s) de las ramas tampoco mostró diferencias entre tratamientos control y EIP, con valores promedios (DE) de 1,07 (0,21) y 0,91 (0,19) $\text{Kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ respectivamente.

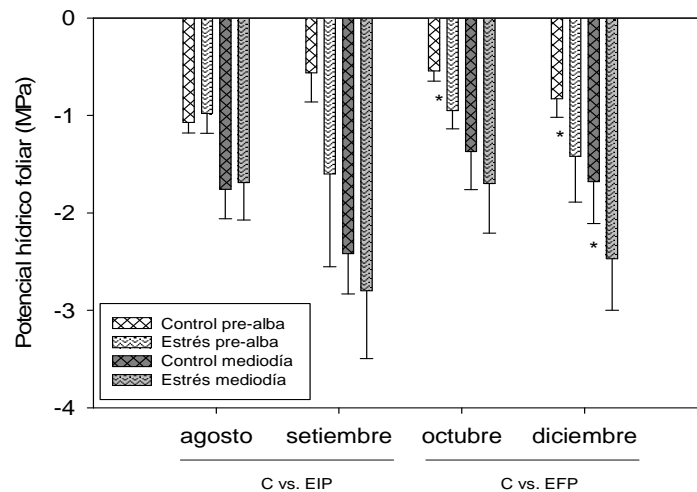


Figura 4: Potencial hídrico (Ψ_f , MPa) medido en plantas con y sin restricción hídrica en pre-alba y al mediodía en distintas fechas de la temporada de crecimiento. Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos en cada momento del día (pre-alba o mediodía) y fecha de medición con un nivel de significancia $p < 0.05$.

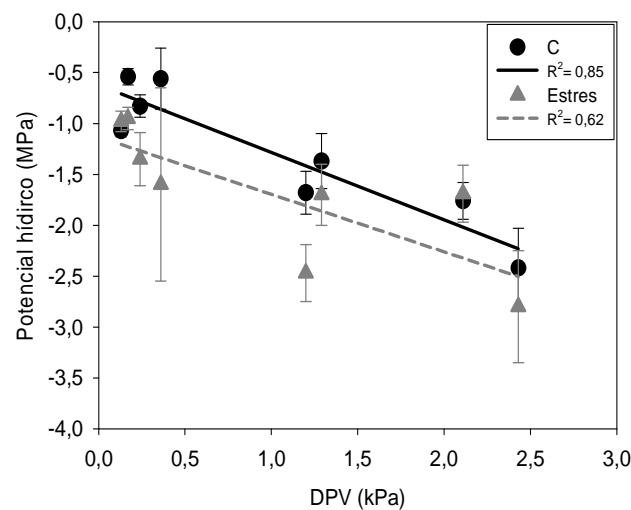


Figura 5: Relación entre el potencial hídrico foliar (MPa) y el déficit de presión de vapor de la atmósfera (DPV, kPa) al momento de la medición de esta variable fisiológica, en plantas con y sin restricción hídrica (EIP y EFP). Cada punto representa el promedio de 12 plantas correspondientes a un tratamiento, fecha y momento de medición.

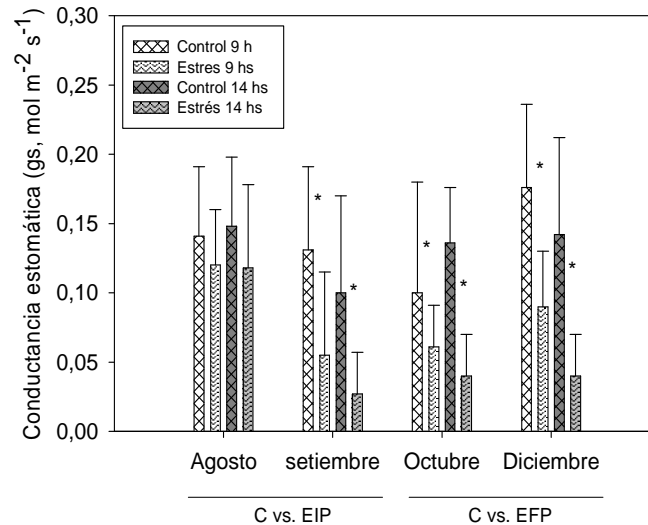


Figura 6: Conductancia estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas con y sin restricción hídrica, medida a las 9 hs y a las 14 hs. C= plantas control; E= plantas con restricción hídrica al momento de la medición (plantas del tratamiento EIP en agosto y septiembre, y del tratamiento EFP en octubre y diciembre). Los asteriscos indican diferencias significativas entre C y E dentro de cada fecha y momento de medición con un nivel de significancia $p < 0,05$. Cada columna representa el promedio y desvío estándar de 6 plantas.

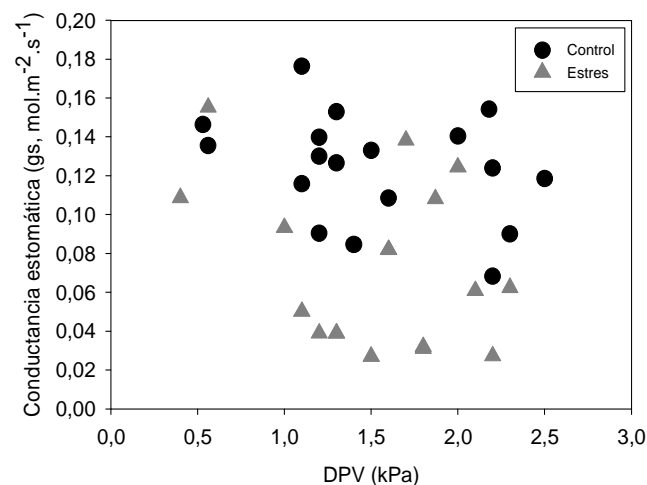


Figura 7: Conductancia estomática en función del déficit de presión de vapor de la atmósfera (DPV) en plantines de *Pinus taeda* con y sin restricción hídrica. Cada punto es el promedio de 6 plantas del control y los tratamientos EIP y EFP.

DISCUSION

Las plantas bajo déficit hídrico tuvieron un patrón general de crecimiento en altura y dac similar al de las plantas control, presentando sus valores máximos y mínimos en los mismos momentos. Este tipo de patrón coincide con el encontrado por Gelid de Rubial et al. (1997), quienes determinaron para esta especie y en la misma zona en la que se realizó el presente estudio (NE de Argentina) que la altura total presenta un aumento del incremento mensual entre los meses de julio a octubre, momento éste a partir del cual el

incremento comienza a declinar para esta especie.

El déficit hídrico impuesto en verano no afectó el crecimiento en altura y dac de los árboles, mientras que el impuesto en la primavera, ya sea al inicio o al final de la misma, sí tuvo un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento en altura y dac. Las plantas expuestas a déficit de agua en el suelo al inicio del período de crecimiento, lograron recuperar las tasas de crecimiento a los 30 días posteriores al cese del déficit hídrico, alcanzando un segundo máximo de magnitud similar al primero para el caso de la altura (que había sido menor al de las plantas control debido a que

coincidió temporalmente con la imposición de estrés hídrico). En contraste, las plantas expuestas a estrés más avanzada la primavera, no recuperaron su crecimiento en altura aún a los 50 días de cese del déficit hídrico (fecha en que culminó el experimento). Sin embargo el dac manifestó una leve recuperación en el crecimiento a los 20 días aproximadamente luego del cese del estrés hídrico. Posiblemente, la falta de recuperación del crecimiento en altura se debió a que el momento de imposición del estrés coincidió con el momento en el que se observa una disminución en la tasa de crecimiento diaria normal (dada en el control sin estrés), que limitaría la capacidad de recuperación posterior. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de considerar el momento de ocurrencia de la restricción de agua en el suelo, para poder predecir las respuestas en crecimiento inmediatas y posteriores al mismo.

Por otro lado, si bien se observó una recuperación del crecimiento en el tratamiento EIP, el crecimiento relativo acumulado fue inferior al control, tanto en altura como en diámetro. Esto se debió a que la mayor proporción del crecimiento acumulado ocurre al inicio del período de crecimiento (septiembre), momento en el que se impuso el tratamiento EIP, y que condujo a una significativa disminución del crecimiento acumulado. Por el contrario, el déficit hídrico impuesto en verano (EV) no afectó el crecimiento relativo acumulado en ninguna de las dos variables consideradas.

Si bien se observaron efectos significativos del estrés hídrico en primavera sobre el crecimiento en altura y dac, no se observaron cambios en la partición de la biomasa dentro de la fracción aérea de la planta, ni sobre la función del leño (k_s) de los plantines. Respecto a la biomasa, no se cuenta con información de esta variable al inicio del ensayo, por lo cual no es posible afirmar con seguridad que las plantas del control hayan tenido menor biomasa al inicio. Sin embargo, su menor altura y dac registrados al inicio del ensayo sugieren que este grupo de plantas presentó una biomasa también menor en ese momento. En este sentido, se observó que la biomasa final estuvo estrechamente relacionada con el incremento en dac y volumen de los plantines (r^2 promedio para las regresiones de los 4 tratamientos=0,71, datos no mostrados), sugiriendo que las plantas que más incrementaron su volumen de tallo fueron las que presentaron la mayor producción de biomasa al final del ensayo. Por lo tanto, es plausible deducir que la misma biomasa al final del ensayo en todos los tratamientos nos reflejaría una mayor producción aérea *relativa* de biomasa en el control respecto de los tratamientos donde se impuso déficit hídrico, siendo esto un resultado esperado de acuerdo a los patrones de crecimiento en altura y dac, g_s y A_{max} registrados en el período. Si bien las plantas en este estudio no mostraron diferencias en la asignación de biomasa entre los distintos compartimentos, en líneas generales la asignación diferencial entre compartimentos es un fenómeno que suele ser observado (King et al., 1999). También es común, ante estrés hídrico, detectar modificaciones en la partición entre los compartimentos aéreos y subterráneos, sin embargo este último no fue considerado en este

trabajo, por lo cual no se pueden hacer inferencias al respecto.

Por el contrario, las plantas manifestaron algunas respuestas morfológicas a nivel foliar ante el estrés hídrico, como una tendencia a un mayor espesor de epidermis, y un aumento en el tamaño de los estomas acompañado de una reducción en la densidad estomática. Desde el punto de vista de la regulación del estado hídrico de las plantas, los estomas son estructuras importantes tanto para hacer frente a cambios ambientales diarios (corto plazo) como estacionales. La regulación estomática puede manifestarse en el corto plazo mediante una alta sensibilidad estomática al DPV (Buckley, 2005; Casson & Gray, 2007), la cual no fue encontrada en nuestros resultados. Esta baja sensibilidad estomática al DPV también ha sido descrita para *P. taeda* por Aspinwall et al. (2011) y Tang et al. (2003), y ha resultado en el presente estudio en un comportamiento anisohídrico, pero isohidrodinámico (Franks et al., 2007), de los plantines evaluados, en los que, las plantas que presentaban en pre-alba un menor potencial hídrico (tratamientos de estrés), alcanzaban menores potenciales al mediodía que las control, manteniéndose en ambos tratamientos gradientes de potenciales hídricos similares. Este mantenimiento del gradiente de potencial entre el suelo (estimado por el potencial hídrico de las hojas en pre-alba y considerando equilibrio termodinámico nocturno entre el suelo y el tejido foliar) y las hojas contribuiría a mantener el movimiento de agua en fase líquida en magnitud similar entre tratamientos. Por otro lado, la regulación estomática a más largo plazo puede desarrollarse a través de una aclimatación ambiental mediada por una modificación de los estomas, alterando su morfología y frecuencia (Casson & Gray, 2007; England & Attiwill, 2011), fenómeno que sí se observó en nuestro sistema de estudio. Sin embargo, los cambios observados a nivel estomático (aumento de tamaño individual y disminución del número) resultan en un mantenimiento del área de poros, lo que resulta difícil de explicar como una respuesta con carácter adaptativo. En este sentido, al igual que en este estudio, antecedentes en otras especies reportan una disminución de la frecuencia de estomas en respuesta al déficit hídrico (e.g. Xu & Zhou, 2008), asociándose la característica de menor densidad estomática a una mayor tolerancia a este tipo de estrés (Yu et al., 2008; Liu et al., 2012) y una mayor eficiencia en el uso del agua (Monclus et al., 2006). Sin embargo, y contrariamente a lo observado en *P. taeda* en el presente trabajo, el tamaño de los estomas generalmente disminuye frente al estrés hídrico (Nautiyal et al., 1994; Xu & Zhou, 2008; Bosabalidis & Kofidis, 2002), pero existen algunos estudios que muestran un aumento del tamaño de los estomas frente a este factor de estrés (e.g. Rodiyati et al., 2005). Más allá de la anatomía de los estomas y de su densidad, la conductancia estomática sí reflejó los efectos del déficit hídrico en el suelo, observándose el cierre estomático parcial en los tratamientos de estrés en algunas fechas, lo que disminuyó la capacidad de fijación de C por unidad de área foliar (menor A_{max}). Estos resultados coinciden con lo determinado por Faustino et al. (2013) para la misma especie y zona de estudio, quienes encontraron que las tasas de crecimiento menores

observadas en algunas familias estaban relacionados a g_s menores.

Los potenciales hídricos máximos y mínimos menores limitaron parcialmente el crecimiento relativo en altura y diámetro en el período de estudio. Sin embargo, el comportamiento estomático, si bien mostró una respuesta a la deficiencia de agua en el suelo, ésta no se vio sinergizada por una sensibilidad alta al DPV, resultando en una ausencia de cierre estomático completo en todo el período de estudio. Esto permitiría a los genotipos estudiados de *P. taeda* continuar fijando C y consecuentemente, alcanzar crecimientos diarios significativos aún bajo deficiencia hídrica moderada. En este sentido, Zweifel et al. (2009) determinaron que *P. sylvestris* puede abrir sus estomas en condiciones moderadas de sequía y soportar por cortos períodos de tiempo un estrés más severo; sin embargo requiere de precipitaciones a intervalos regulares para permanecer con sus estomas abiertos y seguir siendo productiva.

Si bien el ajuste osmótico es una respuesta al estrés hídrico ampliamente observada en muchas especies (e.g. Parker et al., 1982; Meier et al., 1992; Nguyen-Queyrens & Bouchet-Lannat, 2003; Villar-Salvador et al., 2004), en este estudio no fueron observados ajustes osmóticos ni elásticos. Este resultado es similar a los encontrados por Fernandez et al. (2014) en *P. ponderosa* y por Villar-Salvador et al. (1999) en *P. halepensis*; sin embargo están en contraposición a los encontrados por Meier et al. (1992) en dos familias de *P. taeda* con valores promedios para Ψ_{Tsat} y Ψ_{TLP} de -1,3 MPa y -1,9 MPa, respectivamente, para plantas no estresadas, y de -1,5 MPa y -2,13 MPa respectivamente, en plantas bajo condiciones de estrés hídrico. Estos valores y aquellos encontrados por Schulte & Henry (1992) son superiores a los determinados en el presente trabajo lo cual sugiere que, a pesar de no presentar ajuste osmótico, estos orígenes de *P. taeda* poseen parámetros hídricos consistentes con una relativamente alta capacidad de mantenimiento de la turgencia celular, carácter que constituye una ventaja frente a condiciones de déficit hídrico.

Como se mencionó anteriormente, la k_s no difirió entre los tratamientos. Esta variable fue determinada al mediodía donde la tensión en el xilema es alta y podría provocar la cavitación de los conductos xilemáticos. Sin embargo la similitud en la capacidad de transporte de agua en todas las plantas, sugiere que los potenciales hídricos menores experimentados por las plantas bajo déficit hídrico no afectaron la k_s , a menos que la k_s máxima, la cual no fue determinada en este estudio, difiera entre los tratamientos.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo constituyen una primera aproximación a las relaciones entre crecimiento y fisiología foliar en respuesta a la variación temporal en la disponibilidad de agua en el suelo para algunos orígenes genéticos selectos de *P. taeda*. El déficit de agua en el suelo durante la primavera tuvo un marcado efecto negativo sobre el crecimiento en altura y dac , con distinta capacidad de recuperación (al menos en el

mediano plazo) en función del momento de ocurrencia del estrés. Por el contrario, el déficit de agua en el suelo en momentos de bajo crecimiento dentro de la temporada (verano) no impactó sobre la tasa diaria ni el crecimiento acumulado, en comparación con las plantas creciendo sin restricciones hídricas en el suelo. Posiblemente las altas temperaturas que conducen a DPV elevados en este momento del año impliquen una limitación a la fijación de C, independientemente de la disponibilidad de agua a nivel de las raíces, homogenizando las respuestas en crecimiento.

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de considerar el momento de ocurrencia del estrés hídrico sobre el crecimiento de plantines de *P. taeda*, lo que puede contribuir a la predicción del comportamiento de la especie frente a cambios en el clima ya sea debidos a la variabilidad climática en un sitio dado, o bien por modificaciones en las áreas de implantación de la especie. Se requieren investigaciones futuras que evalúen la capacidad de recuperación del crecimiento (resiliencia) a mayores plazos que los analizados en el presente estudio, así como la posible respuesta diferencial entre genotipos (variabilidad genética intraespecífica). Asimismo, se requiere estudiar aún el posible impacto diferencial sobre otros destinos del C como las reservas de carbohidratos o el desarrollo radical de las plantas, los que pueden afectar la tolerancia al estrés y el crecimiento en eventos posteriores de sequía.

Agradecimientos

Los autores agradecen al grupo de trabajo del área de mejoramiento de la EEA Montecarlo por la información y el material genético para la realización del ensayo. A Iris Figueredo por su colaboración en el trabajo histológico en laboratorio y en las actividades de campo.

BIBLIOGRAFIA

- Aspinwall, M.J., J.S. King, S.E. McKeand & J.C. Domec.** 2011. Leaf-level gas exchange uniformity and photosynthetic capacity among loblolly pine (*Pinus taeda* L.) genotypes of contrasting inherent genetic variation. *Tree Physiology* 31: 78-91.
- Barnes, A.D.** 2002. Effects of phenology, water availability and seed source on loblolly pine biomass partitioning and transpiration. *Tree Physiology* 22: 733-740.
- Bongarten, B.C. & R.O. Teskey.** 1986. Water relation of loblolly pine seedling from diverse geographic origins. *Tree Physiology* 1: 265-276.
- Bosabalidis, A.M., & G. Kofidis.** 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science* 163: 375-379.
- Buckley, T.N.** 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist* 168: 275-292.
- Bulfe, N. & M. Fernández.** Looking for high growth and high drought resistance genotypes in *Pinus taeda* L.: how trade-offs can be overcome. *Trees*, en revision.
- Casson, S. & J.E. Gray.** 2007. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist* 178: 9-23.

- Corcuera, L.** 2003. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* 12: 111-121.
- D'Ambrogio de Argüeso, A.** 1986. Manual de técnicas de histología vegetal. Hemisferio Sur. 83p.
- England, J.R. & P.M. Attiwill.** 2011. Change in stomatal frequency, stomatal conductance and cuticle thickness during leaf expansion in the broad-leaved evergreen species, *Eucalyptus regnans*. *Trees* 25: 987-966.
- Faustino, L.I., N.M.L. Bulfe, M.A. Pinazo, S.E. Monteoliva & C. Graciano.** 2013. Dry partitioning and hydraulic traits in Young *Pinus taeda* trees fertilized with nitrogen and phosphorus in a subtropical area. *Tree Physiology* 33:241-251.
- Fernández, M.E., J. Gyenge, C. Graciano, S. Varela & G. Dalla Salda.** 2010. Conductancia y conductividad hidráulica. En: *Técnicas de medición en Ecofisiología vegetal. Concepto y procedimientos*. M.E. Fernández & J. Gyenge. Ed. INTA. Argentina pp: 53-68.
- Fernández, M.E., J. Gyenge, S. Varela & M. de Urquiza.** 2014. Effects of the time of drought occurrence within the growing season on growth and survival of *Pinus ponderosa* seedlings. *Trees* online first: DOI 10.1007/s00468-014-0986-1.
- Franks, P.J., P.L. Drake & R.H. Froend.** 2007. Anisohydric but isohydrodynamic: seasonally constant plant water potential gradient explained by a stomatal control mechanism incorporating variable plant hydraulic conductance. *Plant, Cell and Environment* 30: 19-30.
- Gelid de Rubial, M., H.E. Fassola, E. Wabo, J.D. Velázquez, D.A. Alegranza & A.M. Lupi.** 1997. Ciclo de crecimiento en diámetro y altura en árboles jóvenes de *Pinus taeda* L. en la provincia de Misiones. Informe técnico N° 17. INTA, EEA Montecarlo 11 pp.
- Goldstein A.H., N.E. Hultman, J.M. Fracheboud, M.R. Bauer, J.A. Panek, M. Xu, Y. Qi, A.B. Guenther & W. Baugh.** 2000. Effects of climate variability on the carbon dioxide, water, and sensible heat fluxes above a ponderosa pine plantation in the Sierra Nevada (CA). *Agric. For. Meteorol.* 101:113-129.
- Hacke, U.G., J.S. Sperry, B.E. Ewers, D.S. Ellsworth, K.V.R. Schäfer & R. Oren.** 2000. Influence of soil porosity on water use in *Pinus taeda*. *Oecologia* 124:495-505.
- Hulme, M. & N. Sheard.** 1999. Escenarios de Cambio Climático para Argentina, Unidad de Investigación Climática, Norwich, Reino Unido.
- Hunt, R.** 2003. Growth analysis, individual plants. In: Thomas, B., D.J. Murphy & D. Murray Eds. *Encyclopedia of applied plant science*. Academic Press. London. pp: 588-596.
- King, J.S., T.J. Albaugh, H.L. Allen & L.W. Kress.** 1999. Stand-level allometry in *Pinus taeda* as affected by irrigation and fertilization. *Tree Physiology* 19: 769-778.
- Liu, J., F. Zhang, J. Zhou, F. Chen, B. Wang & X. Xie.** 2012. Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice. *Plant Mol. Biol.* 78: 289-300.
- Meier, C.E., R.J. Newton, J.D. Puryear & S. Sen.** 1992. Physiological Responses of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.) Seedlings to Drought Stress: Osmotic Adjustment and Tissue Elasticity. *J. Plant Physiol.* 140: 754-760.
- Monclus, R., E. Dreyer, M. Villar, F.M. Delmotte, D. Delay, J.M. Petit, C. Barbaroux, D.L. Thiec, C. Bréchet & F. Brignolas.** 2006. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoids* x *Populus nigra*. *New Phytologist* 169: 765-777.
- Mundo, I.A., V.A. El Mujtar, M.H. Perdomo, L.A. Gallo, R. Villalba & M.D. Barrera.** 2010. *Austrocedrus chilensis* growth decline in relation to drought events in northern Patagonia, Argentina. *Trees*, 24, 561-570.
- Nautiyal, S., H.K. Badola, M. Pal & D.S. Negi.** 1994. Plant responses to water stress: changes in growth, dry matter production, stomatal frequency and leaf anatomy. *Biologia Plantarum* 36: 91-97.
- Nguyen-Queyrens, A. & F. Bouchet-Lannat.** 2003. Osmotic adjustment in three-year-old seedlings of five provenances of maritime pine (*Pinus pinaster*) in response to drought. *Tree Physiology* 23: 397-404.
- Parker, W.C., S.G. Pallardy, T.M. Hinckley & R.O. Teskey.** 1982. Seasonal changes in tissue water relations of three woody species of the *Quercus-carya* forest type. *Ecology* 63: 1259-1267.
- Rodiyati, A., E. Arisoelaningasih, Y. Isagi & N. Nakagoshi.** 2005. Responses of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. and *Cyperus kyllingia* Endl. to varying soil water availability. *Environmental and Experimental Botany* 53: 259-269.
- Sack, L., P.D. Cowan, N. Jaikumar & N.M. Holbrook.** 2003. The 'hydrology' of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell and Environment* 26: 1343-1356.
- Schulte, P.J. & L.T. Henry.** 1992. Pressure-volume analysis of tissue water relations parameters for individual fascicles of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Tree Physiology* 10: 381-389.
- Schweingruber, F.H.** 1996. Tree rings and environment: dendroecology. Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research. 609 pp.
- Suarez, M.L., L. Ghermandi & T. Kitzberger.** 2004. Factors predisposing episodic drought-induced tree mortality in *Nothofagus*— site, climatic sensitivity and growth trends. *Journal of Ecology* 92:954-966.
- Tang, Z., J.L. Chambers, M.A. Sword & J.P. Barnett.** 2003. Seasonal photosynthesis and water relations of juvenile loblolly pine relative to stand density and canopy position. *Trees* 17: 424-430.
- Teskey, R.O., B.C. Bongarten, B.M. Cregg, P.M. Dougherty & T.C. Hennessey.** 1987. Physiology and genetics of tree growth response to moisture and temperature stress: an examination of the characteristics of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Tree Physiology* 3: 41-61.
- Villar-Salvador, P., L. Ocaña, J. Peñuelas & I. Carrasco.** 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Ann. For. Sci.* 56: 459-465.
- Villar-Salvador, P., R. Planelles, J. Oliet, J.L. Peñuelas-Rubira, D.F. Jacobs & M. González.** 2004. Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedlings after drought

hardening in the nursery. *Tree Physiology* 24: 1147–1155.

Wakamiya-Noborio, I., J.L. Heilman, R.L. Newton & M.G. Messina. 1999. Diurnal changes in water conduction in loblolly pine (*Pinus taeda*) and Virginia pine (*P. virginiana*) during soil dehydration. *Tree physiology* 19: 575-581.

Xu, Z. & G. Zhou. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* 59:3317-3325.

Yu, H., Y.Y. Hong, Y. Wang, P. Xu, S.D. Ke, H.Y. Liu, J.K. Zhu, D.J. Oliver & C.B. Xiang. 2008. Activated

expression of an Arabidopsis HD-RTART protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density. *The Plant Cell* 20: 1134-1151.

Zhou J, Z. Zhang, G. Sun, X. Fang, T. Zha, S. McNulty, J. Chen, Y. Jin & A. Noormets. 2013. Response of ecosystem carbon fluxes to drought events in a poplar plantation in Northern China. *For Ecol Manage* 300:33–42.

Zweifel, R., A. Rigling & M. Dobbartin. 2009. Species-specific stomatal response of trees to drought – a link to vegetation dynamics? *Journal of Vegetation Science* 20: 442–454.